

# Kan Alma Tüplerinin Folat Ölçümlerine Etkisi

## *The Effects of Blood Collection Tubes on Folate Measurements*

Hacı Kemal Erdemli\*

Ramazan Kocabaş\*\*

Sumeyya Akyol\*\*\*

\* Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Çorum, Türkiye

\*\* Hitit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Çorum, Türkiye

\*\*\* Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

**Başvuru Tarihi:** 28 Temmuz 2015

**Kabul Tarihi:** 09 Aralık 2015

### ÖZET

**Amaç:** Pıhtı aktivatörlü kan alma tüpleri klinik laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Siemens Advia Centaur XP cihazındaki sıra dışı yüksek folat sonuçları kan alma tüplerinin folat ölçümleri üzerine etkisini araştırmamıza sebep oldu.

**Gereç ve Yöntem:** Pıhtı aktivatörlü üç plastik tüp tipi, potansiyel ölçüm interferansı açısından değerlendirildi; Vacutest REF11030 (Grup A), Becton Dickinson (BD) Vacutainer CAT REF367896 (Grup B) ve BD Vacutainer SSTTM II Advance REF367953 (jelli) (Grup C). Görünürde sağlıklı 13 bireyden farklı tüplere alınan kanlarda serum folat konsantrasyonları Siemens Advia Centaur XP, Roche E-170 ve Beckmann Unicell DXI800 cihazlarında ölçüldü ve sonuçlar karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Folat düzeyleri Siemens AdviaCentaur XP cihazı ile ölçüldüğünde; Grup A'da ( $13.44 \pm 4.56$  ng/mL) Grup B ( $8.82 \pm 3.33$  ng/mL) ve Grup C ( $8.58 \pm 2.83$  ng/mL) tüplerinden anlamlı derecede daha yüksekti ( $p < 0.001$ ). Roche E-170 ve Beckmann UniCel DXI800 cihaz sonuçlarında tüp grupları arasında bir farklılık görülmedi ( $p > 0.05$ ). Grup A tüplerine alınmış, farklı cihazlardan elde edilen serum folat düzeyleri karşılaştırıldığında, Siemens Advia Centaur XP cihaz sonuçları ( $13.44 \pm 4.56$  ng/mL), Roche E-170 ( $9.15 \pm 2.25$  ng/mL) ve Beckmann Unicell DXI800 ( $8.70 \pm 3.00$  ng/mL) cihaz sonuçlarına göre anlamlı derecede daha yüksekti ( $p < 0.001$ ).

**Sonuç:** Siemens folat kiti, pıhtı aktivatörlü Vacutest tüpünün içeriğinden anlamlı derece etkilenmekte ve sonuçların yüksek çıkmasına sebep olmaktadır. Klasik kalite kontrol programları ile kan alma tüplerinden kaynaklanan ölçüm interferansları tespit edilememektedir. Bundan dolayı her bir yeni kullanıma başlanan kan alma tüpü, ölçüm interferansı açısından özellikle de immünoassay sistemlerinde test edilmelidir.

**Anahtar Sözcükler:** Folat, kan örneği alımı, immünassay

## ABSTRACT

**Objective:** Blood collection tubes with a clot activator are widely used in clinical laboratories. Unexpectedly high results in folate assays obtained on Siemens Advia Centaur XP analyzer triggered a need for an investigation of the effects of blood collection tubes on folate measurements.

**Material and Methods:** We investigated the potential assay interference of three types of plastic tubes with a clot activator; Vacutest REF11030 (Group A); Becton Dickinson (BD) Vacutainer CAT REF367896 (Group B); and BD Vacutainer SSTTM II Advance REF367953 (with gel) (Group C) tubes. Blood samples from apparently healthy 13 volunteers were drawn into these different tube types and serum folate concentrations were analyzed by Siemens Advia Centaur XP, Roche E-170, and Beckmann UniCel Dxl800 immunoassay analyzers. The results were compared and p values <0.05 were considered as statistically significant.

**Results:** Folate values measured one Siemens Advia Centaur XP, were significantly higher in Group A ( $13.44 \pm 4.56$  ng/mL) than Group B ( $8.82 \pm 3.33$  ng/mL) or Group C ( $8.58 \pm 2.83$  ng/mL) tubes ( $p < 0.001$ ). No difference was found between the tube groups regarding Roche E-170 and Beckmann UniCel DXI800 analyzers ( $p > 0.05$ ). When serum folate levels drawn into Grup A tubes were compared with different analyzers, results obtained from Siemens Advia Centaur XP ( $13.44 \pm 4.56$  ng/mL) were higher than results obtained from Roche E-170 ( $9.15 \pm 2.25$  ng/mL) or Beckmann Unicell DXI800 ( $8.70 \pm 3.00$  ng/mL) analyzers ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Siemens folate reagent was significantly influenced by the contents of the Vacutest tube with a clot activator resulting in high results. Assay interferences born from blood collection tubes represent challenges to clinical laboratories because they are not detected by the usual quality control programs. Therefore, when starting to use a new blood collection tube, assay interferences should be tested, especially for immunoassay systems.

**Keywords:** Folate, blood specimen collection, immunoassay

## GİRİŞ

Literatürde çeşitli testlerin kan alma tüplerine konulan ek maddelerden etkilendiği gösterilmiştir (1-3). Özellikle immünassay testlerde interferansa sık rastlanmaktadır. Çeşitli ticari markalardaki testler, değişik tüp katkı maddelerinden etkilenmektedir (4-7) Tüplerin hangi testlerde kullanılabileceği ile ilgili yeterli validasyon çalışmaları da yapılmamaktadır (8).

Hastanemiz hormon laboratuvarında kullandığımız otoanalizörün değişmesi sonucu folik asit (folat) testlerinde yüksek sonuçların çıktığı fark edildi. İç kalite kontrol sonuçlarında bir anormallik olmamasına rağmen hasta sonuçları genel olarak önceki kullandığımız otoanalizör sonuçlarına göre neredeyse iki katı civarındaydı. Bunun sebebini araştırmak için bu çalışma planlandı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hastalardan Örneklerin Alınması

Bu çalışmada hastanemiz biyokimya laboratuvarına başvuran kişilerden, istenen testler gereği en az 3 serum tüpüne kanı alınması gereken ve görünürde sağlıklı 13 kişinin kan örnekleri kullanıldı. Bu uygulama ile hastalardan fazladan kan alımı yapılmaması sağlanmış oldu. Kişilerin venöz kan örnekleri oturur pozisyonda 3 ayrı kan tüpüne alındı. Kan alımında Vacutest REF11030 (Grup A), Becton Dickinson (BD) Vacutainer CAT REF367896 (Grup B) ve BD Vacutainer SST TM II Advance REF367953 (jelli) (Grup C) tüpleri kullanıldı. Kan örneklerinin laboratuvara transferi, santrifüj, alikotlama en geç 1 saat içinde tamamlandı.

## Folat Ölçümleri

Folat ölçümleri Siemens AdviaCentaur XP (Siemens, USA), Roche E-170 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) ve Beckmann Unicell DXI800 (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, U.S.A.) cihazlarında gerçekleştirildi. Her üç ölçüm üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirildi. Her bir tüp örneği her bir cihazda bir kez çalışıldı.

## İstatistiksel analiz

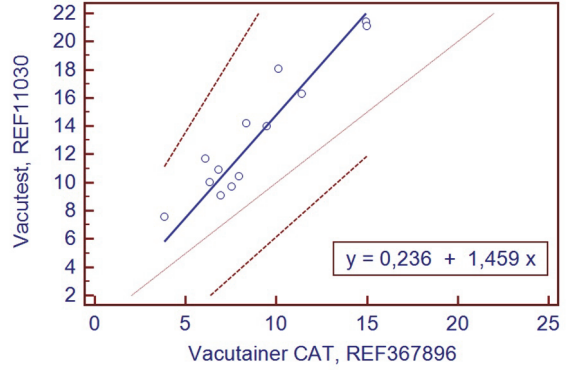
Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Grup karşılaştırmaları, aynı cihaz verileri için bağımlı t-testi ile, farklı cihaz verileri için bağımsız t-testi ile yapıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standard sapma olarak verildi. Aynı cihaza ait farklı tüplerden yapılan ölçümlerin uyumluluğu Passing Bablok regresyon analizi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

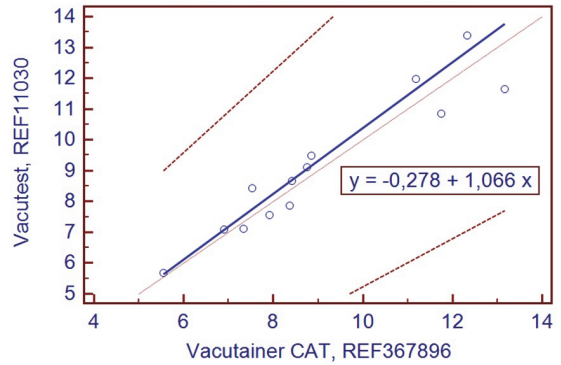
Serum folat düzeyleri Siemens Advia Centaur XP cihazında ölçüldüğünde, Grup A'da ( $13.44 \pm 4.56$  ng/mL) Grup B'de ( $8.82 \pm 3.33$  ng/mL) ve Grup C'de ( $8.58 \pm 2.83$  ng/mL) olarak bulundu. Grup A değerleri Grup B ve C'ye göre anlamlı derecede daha yüksekti ( $p < 0.001$ ). Roche E 170 cihazında yapılan folat ölçümleri Grup A'da ( $9.15 \pm 2.25$  ng/mL), Grup B'de ( $9.08 \pm 2.31$  ng/mL) ve Grup C'de ( $9.07 \pm 1.96$  ng/mL) olarak bulundu. Beckmann UniCel DXI800 cihaz ölçümleri ise Grup A'da ( $8.7 \pm 3.0$  ng/mL), Grup B'de ( $8.4 \pm 2.7$  ng/mL) ve Grup C'de ( $8.3 \pm 3.0$  ng/mL) şeklinde bulundu. Roche E-170 ve Beckmann UniCel DXI800 cihaz sonuçları açısından tüp grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ( $p > 0.05$ ). Grup A'daki serum folat düzeyleri farklı cihazlar arasında karşılaştırıldığında, Siemens Advia Centaur XP cihazına ait sonuçlar ( $13.44 \pm 4.56$  ng/mL), Roche E-170 ( $9.15 \pm 2.25$  ng/mL) ve Beckmann Unicell DXI800 ( $8.70 \pm 3.00$  ng/mL) sonuçlarına göre anlamlı derecede daha yüksekti ( $p < 0.001$ ) (Tablo 1).

Grup A tüpler ile benzer özellikte olan Grup B tüpleri folat sonuçlarının Grup A ile uyumu

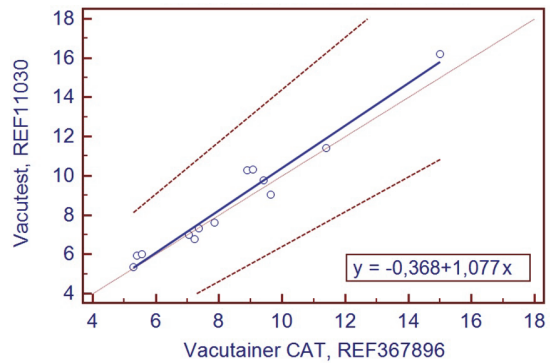
her cihazın kendi içinde Passing Bablok regresyon analizi ile değerlendirildiğinde, Siemens folat kitinin intersept ve slop değerlerinin ( $y = 0.236 + 1.459x$ ) (Şekil 1), Roche kitinden ( $y = -0.278 + 1.066x$ ) (Şekil 2) ve Beckmann kitinden ( $y = -0.368 + 1.077x$ ) (Şekil 3) yüksek olduğu görüldü.



Şekil 1. Siemens Folat (Advia Centaur XP) ölçümleri için Passing Bablok Regresyon Analizi



Şekil 2. Roche Folat (E-170) ölçümleri için Passing Bablok Regresyon Analizi



Şekil 3. Beckman Folat (Unicell DXI800) ölçümleri için Passing Bablok Regresyon Analizi

**Tablo 1.** Farklı tüplerde ölçülen serum folat düzeyleri (ng/mL)

	<b>Grup A (Vacutest)</b>	<b>Grup B (Vacutainer CAT)</b>	<b>Grup C (Vacutainer SST II)</b>
<b>Siemens - Folat</b>	13.44 ± 4.56 <sup>a,b</sup>	8.82 ± 3.33	8.58 ± 2.83
<b>Roche - Folat</b>	9.15 ± 2.25	9.08 ± 2.31	9.07 ± 1.96
<b>Beckmann - Folat</b>	8.70 ± 3.00	8.40 ± 2.70	8.30 ± 3.00

**a**,  $p < 0.001$  (Bağımlı T-testi), Grup A'da Siemens folat ölçümlerinin Grup B ve Grup C Siemens folat ölçümlerinden farkı  
**b**,  $p < 0.001$  (Bağımsız T-testi), Grup A'da Siemens folat ölçümlerinin Roche ve Beckmann folat ölçümlerinden farkı

## TARTIŞMA

Plastik kan tüpleri biyokimya, hormon, terapötik ilaç izlemi gibi klinik laboratuvar uygulamalarının büyük çoğunluğunda sıklıkla kullanılmaktadır.

Plastik kan alma tüplerinin kullanımının artmasıyla birlikte, serum tüplerinde pıhtı aktivatörü kullanımı da artmıştır. Tüp duvarları silika partiküller ve polivinilpirrolidon ile kaplanmaktadır. Ayrıca silikon bazlı sürfaktanlar veya polipropilen oksit tüplerin iç duvarlarında bulunmaktadır. Bazı tüplerde ise santrifüj sonrası serumla pıhtıyı ayırmak için seperatör jeller kullanılmaktadır.

Kan alma işlemi sonrasında tüplerin holderdan rahat çekilebilmesi için tüp tıparları lubrikan (yağlayıcı) maddelerle kaplanmaktadır.

Laboratuvarda kullanılan immunassay reaktifleri surfaktanlar içeriyorsa, surfaktan seçimi iyi yapılmalı ve miktarı çok iyi ayarlanmalıdır. Çünkü surfaktanların yüksek konsantrasyonda olması durumunda solid fazda adsorbe edilmiş antikörlerin doğrudan kaybına neden olabilmektedirler (2).

Bowen ve ark. DPC Immulite® 2500 Total triiyodotironin (TT<sub>3</sub>) testinde silikon bazlı sürfaktanların interferans yaptığını göstermişlerdir (1). Olası mekanizma olarak da solid faz sürfaktanların antikörleri dezorpsiyona uğratması sonucu yanlış yüksek TT<sub>3</sub> ölçümleri elde edildiği düşünülmüştür (10,11).

Çalışmamızda da Grup A tüplerde Siemens Advia Centaur® cihazında folik asit ölçüm değerlerinin, Roche E 170 ve Beckmann Unicel Dx1800 cihaz ölçümlerine göre 1.5 kat fazla olduğunu bulduk. Sadece Grup A

tüplerdeki bu farklılığın literatürle uyumlu olarak, tüp içeriğindeki pıhtı aktivatörü maddelerin Siemens Advia Centaur® cihazında folik asit ölçümünde interferansa yol açtığını düşündük.

Sonuç olarak, Siemens folat kiti pıhtı aktivatörlü Vacutest tüpünün içeriğinden anlamlı derece etkilenmekte ve sonuçların yüksek çıkmasına sebep olmaktadır. Klasik kalite kontrol programları ile kan alma tüplerinden kaynaklanan ölçüm interferansları tespit edilememektedir. Bu nedenle klinik laboratuvarlar tehdit altındadır. Bundan dolayı her bir yeni kan alma tüpü, ölçüm interferansı açısından özellikle immünoassay sistemlerinde test edilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014;24(1):31-44
2. Stankovic AK, Parmar G. Assay interferences from blood collection tubes: a cautionary note. *Clin Chem*. 2006;52(8):1627-8.
3. Dimeski G. Interference Testing. *ClinBiochem Rev*. 2008; 29 Suppl (i): S43-8.
4. Bowen RA, Vu C, Remaley AT, Hortin GL, Csako G. Differential effect of blood collection tubes on total free fatty acids (FFA) and total triiodothyronine (TT<sub>3</sub>) concentration: a model for studying interference from tube constituents. *ClinChimActa*. 2007;378(1-2):181-93.
5. Yucel A, Karakus R, Cemalettin A. Effect of blood collection tube types on the measurement of human epidermal growth factor. *J Immunoassay Immunochem*. 2007;28(1):47-60.
6. Bowen RA, Chan Y, Cohen J, Rehak NN, Hortin GL, Csako G et al. Effect of blood collection tubes on total triiodothyronine and other laboratory assays. *Clin Chem*. 2005;51(2):424-33.
7. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem*. 1994;40 (11 PT 1):1996-2005.

8. Boeynaems JM, De Leener A, Dessars B, Villa-Lobos HR, Aubry JC, Cotton Fet al. Evaluation of a new generation of plastic evacuated blood-collection tubes in clinical chemistry, therapeutic drug monitoring, hormone and trace metal analysis. Clin Chem Lab Med. 2004;42(1):67-71.
9. Bowen RA, Chan Y, Ruddel ME, Hortin GL, Csako G, Demosky SJ Jr et al. Immunoassay interference by a commonly used blood collection tube additive, the organosilicone surfactant silwet L-720. Clin Chem 2005;51(10): 1874–82.
10. Selby C. Interference in immunoassay. Ann Clin Biochem 1999;36 (PT 6):704–21.
11. Wood WG, Gadow A. Immobilization of antibodies and antigens on macro solid phases—a comparison between adsorptive and covalent binding. A critical review of macro solid phases for use in immunoassay systems. Part I. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21(12):789–97.

---

**Yazışma adresi:**

Hacı Kemal Erdemli

Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Biyokimya Laboratuvarı, Çorum, Türkiye

e-mail: hkemal@hotmail.com

---